

Recenzja

Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lek. med. Dawida Miśkowca pt „Ocena wartości diagnostycznej i prognostycznej wybranych mikroRNA(miRNA-1, miRNA-21, miRNA-133a, miRNA-208a, miRNA-499) w grupie pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez przetrwałego uniesienia odcinka ST

Materiały do recenzji otrzymałem w dniu 25.05.2020 pocztą tradycyjną. Dokumenty były przygotowane prawidłowo i według mojej oceny spełniają wymogi ustawowe art. 16 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki- (Dz. U. z dnia 27 września 2017 poz.1789).

Rozprawa doktorska lek. med. Dawida Miśkowca pt. „Ocena wartości diagnostycznej i prognostycznej wybranych mikroRNA(miRNA-1, miRNA-21, miRNA-133a, miRNA-208a, miRNA-499) w grupie pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez przetrwałego uniesienia odcinka ST” wpisuje się w interesującą tematykę poszukiwania nowych narzędzi diagnostycznych i rokowniczych u osób z różnymi postaciami choroby niedokrwiennej serca (CHNS). Choroby serca i naczyń to główna przyczyna śmiertelności na świecie, a połowa z nich wywołana jest przez CHNS, co świadczy o trafności wyboru tematyki badawczej, a z drugiej strony o jej uniwersalnej aktualności. W XX wieku ludzkość dzięki rozwojowi medycyny i techniki dokonała nieprawdopodobnego wręcz progressu, w kwestii postępowania z osobami z CHNS. Udało się bowiem sformułować hipotezę dotyczącą prawdopodobnej etiopatogenezy choroby na podłożu molekularnym, ponadto udało się określić jej główne czynniki ryzyka (w

pierwszym badaniu epidemiologicznym na populacji Framingham). W końcu uzyskano także możliwości diagnostycznej wizualizacji tętnic wieńcowych i ostatecznie opracowano różne techniki udrażniania zwężonych tętnic nasierdziowych. Postęp w leczeniu CHNS objął także optymalny model stylu życia i nowoczesnej farmakoterapii, a wszystkie te kwestie przyczyniły się do istotnego wydłużenia życia osób z chorobą niedokrwienną serca o etiologii miażdżycowej. Wydłużenie życia chorych wiąże się jednak z konsekwencjami i zarazem wyzwaniem. Stąd powstały określone standardy postępowania w ostrych i stabilnych zespołach wieńcowych określające wskazania do wykonywania zarówno procedur sercowo-naczyniowych jak i interwencji farmakologicznych zapobiegających wystąpieniu najpowszechniejszego powikłania CHNS, niewydolności serca.

O ile kwalifikacja do interwencji w przebiegu ostrego zespołu wieńcowego (OZW) z uniesieniem odcinka ST ze względu na określone rygory czasowe, opiera się o kryteria kliniczne, o tyle w przebiegu OZW bez uniesienia odcinka ST jest dużo bardziej złożona i wymagająca wnikliwej oceny. Pomocnym w tym jest także fakt, że algorytm czasowy postępowania jest bardziej liberalny z wyłączeniem kilku scenariuszy wymagających pilnej interwencji w przeciągu do 2h (niestabilność hemodynamiczna lub wstrząs kardiogeny, nawracający/utrzymujący się ból w klatce piersiowej oporny na leczenie zachowawcze, zagrażające życiu zaburzenia rytmu serca lub nagłe zatrzymanie krążenia, mechaniczne powikłania MI, ostra HF, nawracające dynamiczne zmiany ST-T). Z powyższego rozumowania wynika, że postępowanie diagnostyczne u osób z podejrzeniem ostrego zespołu wieńcowego pozostaje ciągle ważnym problemem klinicznym. Nie dziwi zatem, że aktualne trendy naukowe w różnych postaciach CHNS są skupione wokół dwóch kwestii. Po pierwsze użycia metod wykorzystujących obliczenia matematyczne określone ogólną terminologią uczenia głębokiego, które mają wskazać czynniki rokowania pacjentów w oparciu o stosowane w praktyce klinicznej, parametry. Parametry, których istotności nie dostrzegły rutynowo stosowane obliczenia statystyczne.

Kolejnym elementem naukowych zainteresowań badaczy skupionych wokół zagadnień CHNS jest poszukiwanie nowych markerów niedokrwienia i ich przydatności klinicznej. Jest to poniekąd pokłosie wzrostu czułości i obniżenia swoistości obecnie stosowanych testów diagnostycznych opierających się o ocenę troponiny uwalnianej w wyniku uszkodzenia kardiomiocytów.

Potencjalnym markerem uszkodzenia miokardium są także różne „izoformy” mikroRNA. MikroRNA(miRNA) to rodzaj niekodującego RNA, zbudowanymi z 22-23 nukleotydów, których odkrycia dokonano pod koniec XX stulecia. Działają one jako post-transkrypcyjne regulatory ekspresji genów, wpływając hamująco na translację białek oraz inicjując degradację mRNA. miRNA pełnią ważną rolę w regulacji lokalnego zapalenia inicjowanego niedokrwieniem m. sercowego w tym procesami: różnicowania, apoptozy, proliferacji, a także włóknieniem czy neorewaskularyzacją oraz aktywacją mechanizmów naprawczych opartych o komórki progenitorowe. Różnorodność form i funkcji miRNA pełnionych w mięśniu sercowym w którym doszło do ostrego niedokrwienia, nie jest do końca zbadana.

Przedstawiona do recenzji rozprawa idealnie wpisuje się zatem w trend aktualnego i niezwykle interesującego zagadnienia poszukiwania nowych wykładników diagnostycznych i rokowniczych wśród pacjentów z OZW NSTEMI, których wczesna ocena może rzucić światło na ich przyszłość i los, co jest kolejnym atutem rozprawy. Potwierdzeniem ważności podjętej tematyki badawczej jest fakt, że projekt będący przedmiotem dysertacji uzyskał grant naukowy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Diamantowy Grant”- numer projektu DIA012942

Rozprawa lek med. Dawida Miśkowca zawiera 11 rozdziałów, 146 stron, 20 tabel, 22 ryciny i 134 pozycji cytowanego piśmiennictwa. Bardzo mocną stroną pracy jest jej zwięzłość i spójność. Na pochwałę zasługuje także bardzo logiczny tok narracji, który powoduje, że pracę czyta się z przyjemnością, ponieważ każdy kolejny podrozdział jest konsekwencją poprzedniego.

We wstępie Autor przedstawia przesłanki uzasadniające podjętą tematykę badawczą. Podaje dane epidemiologiczne związane zachorowalnością na CHNS, przedstawia jej etiologię oraz w zwięzły sposób podział kliniczny. Uwzględnił cały szereg tych aspektów choroby, które nasuwają trudności diagnostyczne, zwracając uwagę na szczególnie ich znacznie właśnie w ostrym zespole wieńcowym bez uniesienia odcinka ST. Doktorant przedstawia ogólny standard postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w tym schorzeniu, konfrontując go z niedoskonałościami współczesnych markerów niedokrwienia miokardium wykorzystywanymi do postawienia ostatecznego rozpoznania. W tej części pracy Autor płynnie przechodzi do zagadnienia mi-RNA, zwracając uwagę na historię ich odkrycia, oraz ważną rolę, którą pełnią w biologii schorzeń naszego ustroju w tym między innymi choroby niedokrwiennej serca. W podsumowaniu i uzasadnieniu celu pracy, Doktorant w sposób logiczny wskazuje

prawdopodobną przydatność i zarazem jeszcze nie do końca poznaną rolę różnych izoform mikro RNA w diagnostyce ostrego zespołu NSTE, co ma ogromne znaczenie w kontekście wielu niedoskonałości powszechnie wykorzystywanych do tego celu wysokoczułych testów troponinowych. Ogólnie pozytywne wrażenie psuje niestety duża ilość błędów literowych oraz stylistycznych.

Hipoteza i cel rozprawy są prawidłowo sformułowane i nie budzą żadnych wątpliwości, a dotyczą porównania panelu wybranych wolnych, krążących mikro RNA 1,21,133a, 208a, 499 z klasycznymi markerami laboratoryjnymi niedokrwienia m. sercowego w rozpoznawaniu zawału serca bez uniesienia odcinka ST oraz w przewidywaniu niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych (s-n) zdefiniowanych jako (zgon, OZW niezakończony zgonem, czy nieplanowana hospitalizacja z powodu chorób s-n).

Sekcja „Metodyka”. Projekt stanowiący podstawę dysertacji, uzyskał zgodę swoistej komisji bioetycznej o numerze RNN/9/13/KE z 2013 roku. Na pochwałę zasługuje fakt, że populacja badania została skrupulatnie oszacowana na podstawie ówczesnych (z 2013 r) doniesień literaturowych i założeń statystycznych. Ponadto niezwykle ciekawym w moim uznaniu jest fakt, że projekt obejmował ponad 24 miesięczną obserwację kliniczną (follow up) po indeksowej hospitalizacji.

Do badania zostali włączeni pacjenci z chorobą niedokrwinną serca pod postacią OZW NSTE (103 pacjentów, w tym 51 osób z zawałem serca NSTE oraz 51 osób z niestabilną postacią dusznicy bolesnej) oraz ze stabilną postacią choroby (47 osób), którzy stanowili grupę kontrolną. Tutaj nasuwa się pierwsza uwaga. Wydaje się, że z punktu widzenia metodycznego grupa ze stabilną chorobą jest pożądaną, ale nie powinna stanowić grupy kontrolnej. Wynika to z definicji tej grupy. Z kryteriów włączenia wynika, że byli to pacjenci z potwierdzoną angiograficznie CHNS jednak bez dolegliwości spoczynkowych (<CCS4). Nie wyklucza to zatem osób z nasileniem dolegliwości w ostatnich 3 tygodniach w klasie 3, których definiujemy już jako dusznicę niestabilną wg ESC. Poproszę o odpowiedź ilu takich pacjentów mogło znaleźć się w takiej grupie? To bowiem w sposób istotny mogło wpłynąć na uzyskane wyniki. Stąd nasuwa się także kolejny wniosek, że grupę kontrolną powinni stanowić raczej pacjenci z np. wykluczonymi zmianami miażdżycowymi chociażby w badaniu angio-KT, z CAC <100pkt.

Ponadto grupa kontrolna była definiowana jako osoby z potwierdzonym angiograficznie zwężeniem 1 z 3 tętnic nasierdziowych w okresie krótszym niż 12 miesięcy poprzedzających włączenie do projektu. Czy oznacza to, że osoby te miały wykonaną w trakcie wspomnianej angiografii angioplastykę zwężonego naczynia, czy nie? Chodzi mi o to, czy pacjenci stanowiący grupę kontrolną byli w pełni zrewaskularyzowani wieńcowo. Analizując charakterystykę grupy badanej wynika, że 50% osób przebyło jakąś formę rewaskularyzacji wieńcowej.

Trzecie pytanie dotyczy charakteru hospitalizacji osób z grupy kontrolnej. Czy były to planowe przyjęcia, czy ostro dyżurowe? Analizując charakterystykę grup, zwraca uwagę bowiem wysokie stężenie NTproBNP, co dla grupy stabilnych pacjentów jest wartością dość wysoką i być może jest pośrednim dowodem na nagły charakter dolegliwości uzasadniających konieczność pilnej hospitalizacji

Część z tych wątpliwości wyjaśnia autor w sekcji dyskusja, tłumacząc powód dla którego nie zostali do badania włączeni ludzie zdrowi, niemniej pozostały niewyjaśnione moje wątpliwości dotyczące tak naprawdę heterogenności grupy kontrolnej.

Wybór panelu izoform miRNA był niewątpliwie uzasadniony w 2013 roku. Obecnie pewnie jeszcze należałoby oznaczać miR-19a/19b, którego zwiększone uwalnianie stwierdza się w pozawałowej HF, czy miR-145, którego niższe stężenia próbuje wiązać się z niestabilnością blaszki wieńcowej. Metodyka izolacji i oceny ilościowej RNA wydaje się zgodna z aktualnie obowiązującymi trendami. Dobór metodyki statystycznej jest prawidłowy.

Sekcja „Wyniki”:

Autor stwierdził, że „ekspresja miRNA-1, miRNA-133a oraz miRNA-499 były istotnie wyższe w grupie pacjentów z zawałem serca bez przetrwałego uniesienia odcinka ST (NSTE) względem pozostałej grupy pacjentów ...” .Ten wynik tym bardziej zasługuje na uwagę, ponieważ wykazanie tych różnic jest znaczącym kontrargumentem dla mojego zarzutu dotyczącego heterogenności grupy kontrolnej.

Ponadto obserwował, że ekspresja miRNA-1, miRNA-133a oraz miRNA-499 korelowały istotnie ze stężeniami klasycznych białkowych markerów uszkodzenia mięśnia sercowego – wysokoczułą troponiną T (hs-cTnT) oraz CK-MBmass

Autor oznaczał ekspresję wybranych miRNA przy przyjęciu oraz 3-4 h po pierwszej donacji krwi w grupie OZW i tylko przy przyjęciu w grupie kontrolnej. To miało swoje konsekwencje, ponieważ o ile wartość pierwszego i drugiego pobrania były uśredniane, to Autor dodatkowo

analizował ekspresję wyjściową (z pierwszej próbki krwi) oraz po 3-4 h niezależnie, co świadczy o wnikliwości badawczej i zasługuje na pochwałę.

„...MiRNA-1, 133a i 499 niezależnie w której donacji krwi były oznaczane, wykazywały umiarkowaną i niższą niż hs-cTnT trafność diagnostyczną w rozpoznawaniu zawału NSTEMI.”

Okazało się, że „...stężenia miRNA-1, miRNA-133a oraz miRNA-499 we wczesnej fazie ostrych zespołów wieńcowych bez przetrwałego uniesienia odcinka ST (NSTEMI) wiązały się z częstszym występowaniem ostrego zespołu wieńcowego niezakończonego zgonem, nieplanowej rehospitalizacji z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz złożonego klinicznego punktu końcowego.”

Ponadto miRNA-133a okazało się być niezależnym predyktorem ostrego zespołu wieńcowego niezakończonego zgonem w obserwacji odległej (895 dni), a miRNA-499 niezależnym predyktorem nieplanowej rehospitalizacji z przyczyn sercowo naczyniowych oraz wystąpienia złożonego punktu końcowego u osób z NSTEMI nawet po skorygowaniu o pozostałe kliniczne czynniki ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego oraz choroby współistniejące.

„...miRNA wykazywały długoterminową wartość prognostyczną dla niekorzystnych zdarzeń klinicznych po NSTEMI, a w przypadku miRNA-499 niezależnie od informacji zawartych w skalach prognostycznych TIMI i GRACE.

Niezwykle ciekawym były obserwacje, że „...poziom ekspresji żadnego z analizowanych podtypów miRNA we wczesnej fazie ostrego zespołu NSTEMI nie był związany z ryzykiem dysfunkcji skurczowej lewej komory, ocenianej echokardiograficznie po roku od włączenia do badania,[..] jak zauważa autor „...może sugerować że stężenia miRNA nie korelują bezpośrednio z obszarem nieodwracalnej martwicy miokardium”

Sekcja „Dyskusja”

Dyskusja w pracy jest niezwykle logiczna, spójna co z pewnością jest także zasługą nadzorującego „promotorskiego oka”. Autor powołuje się na wiele badań kluczowych dla zagadnienia, wykazując się ich znajomością, a także błyskotliwie i umiejętnie konfrontując z nimi własne wyniki. Z przyjemnością odnajduję wiele wątpliwości autora zawartych w dyskusji, a także zakres argumentów wykorzystywanych do naukowej polemiki, które nie ukrywam są bardzo bliskie mojej interpretacji i sposobowi postrzeganiu zagadnienia naukowego będącego

przedmiotem rozprawy. O dojrzałości badawczej świadczy także krytyczne ustosunkowanie się do ograniczeń projektu, co zasługuje na pochwałę.

Wnioski wypływające z pracy są trafnie i rzeczowo sformułowane, stanowiąc zresztą bardzo eleganckie jej podsumowanie. Niemniej mam wrażenie, że wniosek nr 2 jest powtórzeniem pierwszego. Być może jednak autor chciał uwypuklić otrzymany wynik. Dobór zawartego w pracy piśmiennictwa jest prawidłowy. Poszczególne pozycje piśmiennictwa ułożone są w zależności od kolejności ich występowania w tekście.

Podsumowanie. Rozprawa lek. med. Dawida Miśkowca ma wiele atutów. Po pierwsze dotyczy bardzo ciekawego i aktualnego zagadnienia wpływu markerów molekularnych na prognostyczną ocenę pacjentów z chorobą niedokrwinną serca pod postacią OZW NSTEMI i różnicowana jej z innymi postaciami schorzenia. Kolejnym niewątpliwym atutem rozprawy jest sposób prezentacji wyników duża zwięzłość rozprawy i niezwykła dbałość o szczegóły natury merytorycznej. Niemniej w rozprawie autor bardzo zaniedbał kwestie lingwistyczne. Duża ilość błędów literowych i nieco mniejsza stylistycznych we wstępie wywołują niekorzystne wrażenie. Moja uwaga, bynajmniej nie wpływa na ogólnie bardzo pozytywne wrażenie przedstawionej do recenzji rozprawy i uważam, że praca lek. med. Dawida Miśkowca pt. „Ocena wartości diagnostycznej i prognostycznej wybranych mikroRNA(miRNA-1, miRNA-21, miRNA-133a, miRNA-208a, miRNA-499) w grupie pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez przetrwałego uniesienia odcinka ST” spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r z późn. zm.). Zwracam się zatem do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. med. Dawida Miśkowca do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. Paweł Burchardt
Specjalista chorób wewnętrznych
KARDIOLOG
1410402